

Mestrado Integrado em Medicina

Infeção por *Clostridium difficile* – a nossa realidade

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Medicina

Diana Luísa Marques Rocha

Orientador | Professor Doutor Fernando Manuel de Castro Poças

Assistente Hospitalar Graduado de Gastrenterologia do Centro Hospitalar do Porto / Professor
Agregado da Universidade do Porto em Ciências Médicas / Professor Auxiliar Convidado do
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Co-orientadora | Dra. Marta Lemos Rocha

Interna do 4º ano de Formação Específica de Gastrenterologia do CHUP-HSA

Porto, junho de 2017

Agradecimentos

À minha família, por me acompanharem diariamente e me lembrarem a importância da dedicação e do trabalho.

Ao Professor Castro Poças, pela sua simpatia desde o primeiro dia, pela disponibilidade, dedicação, apoio, compreensão e pela confiança demonstrada, não só na realização desta dissertação, mas também ao longo de todo este percurso. Obrigada pela sua generosidade, mas sobretudo pelo estímulo e amizade.

À Dra. Marta Rocha, pelas palavras encorajamento e incentivo. Obrigada pelo tempo que generosamente dedicou e pela sua ajuda tão importante.

Aos meus amigos, para os quais eu volto sempre, por me fazerem cantar “como se tivesse mais razões pra cantar que a vida”.

Aos meus professores, que me ensinaram mais do que aquilo que vinha nos livros, não mais vos esquecerei.

Infeção por Clostridium difficile – a nossa realidade

Autora

Diana Luísa Marques Rocha

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar – Universidade do Porto

Correspondência

Morada: Rua Monte Redondo, nº127, 154-4515, Foz do Sousa. Gondomar

Endereço eletrónico: dianaluisarocha@gmail.com

Resumo

O *Clostridium difficile* é um dos agentes patogénicos mais comuns das infeções nosocomiais nos países desenvolvidos. A infeção por *Clostridium difficile* está associada a uma perturbação na flora intestinal e as suas manifestações podem variar desde portador assintomático até um quadro fulminante de megacólon tóxico.

Ao longo desta tese pretende-se rever os principais fatores de risco, medidas de prevenção e tratamento da infeção por *Clostridium difficile*. A casuística realizada tem como objetivo caracterizar os doentes com esta infeção, no Centro Hospitalar e Universitário do Porto, ao longo do ano 2016, relativamente à epidemiologia, fatores de risco e tratamento.

Nos últimos anos vários estudos epidemiológicos documentaram um aumento preocupante da incidência, gravidade e taxa de recorrência da infeção por *Clostridium difficile*. Os dados epidemiológicos em Portugal são limitados. Os principais fatores de risco são a antibioterapia e a idade avançada. Recentemente, têm surgido novas estratégias terapêuticas que visam o tratamento da infeção recorrente, bem como a sua prevenção, com resultados promissores.

Apesar da implementação de estratégias de prevenção e controlo, a infeção por *Clostridium difficile* tem aumentado em Portugal. Todos os médicos, independentemente da sua especialidade, devem reconhecer os fatores de risco e saber instituir terapêutica para esta infeção. O desenvolvimento do transplante de microbiota fecal revelou-se um tratamento eficaz e seguro na infeção recorrente, apesar disso, a experiência no nosso país é escassa.

Palavras-chave: *Clostridium difficile*, prevenção, tratamento, recorrência, transplante de microbiota fecal

Abstract

Clostridium difficile is one of the leading causes of health care-associated infections, in developed countries. *Clostridium difficile* infection is associated with disruption of the microbiota, and its manifestations may range from mild diarrhoea to pseudomembranous colitis.

This article aims to review the main risk factors, prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. The purpose of the further analysis is to characterize the patients with this infection, in the *Centro Hospitalar e Universitário do Porto*, during 2016, regarding epidemiology, risk factors and treatment.

In recent years several studies have documented an increase in the incidence, severity, and rates of recurrent *Clostridium difficile* infection. Epidemiological data in Portugal is limited. The main risk factors are antibiotic therapy and advanced age. Recently new therapeutic strategies have emerged, aiming the treatment and the prevention of recurrent infection, with promising results.

Despite the implementation of prevention and control strategies, *Clostridium difficile* infection has increased in Portugal. All physicians, regardless of their specialty, should recognize the risk factors and know how to institute therapy for this infection. The development of fecal microbiota transplantation proved to be an effective and safe treatment for recurrent infection, though experience in our country is scarce.

Key words: *Clostridium difficile*, prevention, treatment, recurrent infection, fecal microbiota transplantation

Índice

Agradecimentos	2
Resumo.....	4
Abstract.....	4
Lista de abreviaturas	7
Introdução	8
Materiais e métodos	9
Patogenia e fatores de virulência	10
Apresentação clínica e diagnóstico.....	12
Infeção recorrente	14
Fatores de risco.....	15
Alterações da epidemiologia na última década.....	16
Infeção por <i>C. difficile</i> adquirida na comunidade	17
Prevenção e medidas de controlo	18
Tratamento.....	20
Tratamento da doença ligeira a moderada.....	22
Tratamento da doença grave ou complicada.....	22
Tratamento da recorrência	24
Tratamento cirúrgico da ICD complicada.....	26
Outras terapêuticas e avanços no tratamento da ICD	27
Transplante microbiota fecal.....	29
A realidade no CHUP	32
Resultados	32
Discussão.....	36
Conclusão	38
Referências	39

Lista de abreviaturas

C. difficile – *Clostridium difficile*

ICD – Infecção por *Clostridium difficile*

CHUP – Centro Hospitalar e Universitário do Porto

EUA – Estados Unidos da América

IBP - Inibidores da bomba de prótons

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

EIA – *Enzyme immunoassay*

PCR- *Polimerase Chain Reaction*

TAAN - Teste de amplificação de ácidos nucleicos

DII – Doença inflamatória intestinal

TC - Tomografia computadorizada

SU - Serviço de Urgência

Introdução

O *Clostridium difficile* (*C. difficile*) é um dos agentes mais frequentes das infeções nosocomiais na União Europeia e nos Estados Unidos da América (EUA),[1] e a infeção por *C. difficile* (ICD) é a principal causa de diarreia infecciosa nosocomial.[2, 3] A sua ocorrência aumenta o custo das hospitalizações num múltiplo superior a quatro [4] e os dias de internamento.[5]

Nos últimos anos vários estudos epidemiológicos documentaram um aumento preocupante da incidência, gravidade e taxa de recorrência da ICD, em diferentes regiões do mundo. Em Portugal os dados epidemiológicos são limitados.[6]

Em 2014, a incidência da ICD, estimada por um estudo europeu, foi de 7 casos em 10.000 dias-paciente-cama, o que configura um aumento de 70% em relação ao ano 2008.[2] Paralelamente, a ICD é responsável por cerca de 500,000 infeções e 30,000 mortes a cada ano, nos EUA.[7] Esta infeção comporta um risco de mortalidade três vezes superior nos doentes hospitalizados.[8, 9] A mortalidade atribuída à ICD está estimada em 5-10% e a mortalidade não diretamente relacionada varia entre 15 a 20%.[4, 10]

A taxa de recorrência da ICD pode alcançar os 30% [11] e após o primeiro episódio pode atingir os 60%.[4] Recentemente, surgiram avanços significativos na terapêutica da ICD, com particular interesse o transplante fecal e o desenvolvimento promissor de cápsulas de matéria fecal criopreservadas.[12]

O objetivo deste trabalho é rever os principais fatores de risco, medidas de prevenção e tratamento relativos à ICD. Pretende-se ainda apresentar uma caracterização da ICD no Centro Hospitalar e Universitário do Porto (CHUP), ao longo do ano 2016.

Materiais e métodos

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica na base de dados *Pubmed* relativa a artigos publicados entre 1996/01/01 e 2017/04/30, utilizando como palavras-chave *Clostridium difficile infection, treatment, risk factors, recurrent e prevention*. Desta pesquisa foram selecionados artigos com base em critérios de relevância clínica e impacto na literatura científica. Completou-se a pesquisa com recurso a artigos referenciados em outros artigos, que servem de suporte à elaboração desta revisão.

A identificação dos episódios de ICD no CHUP foi obtida através do Serviço de Microbiologia deste hospital, com recurso ao número do processo dos doentes cujo teste C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® foi positivo, entre 1 de janeiro e 31 de dezembro de 2016. Este é um teste imunoenzimático (EIA – *enzyme immunoassay*) que permite a deteção simultânea antigénio glutamato desidrogenase (GDH) e das toxinas A e B do *C. difficile*, e, por isso, faz o diagnóstico de ICD. Foram excluídos os doentes com idade inferior a 18 anos.

Dois episódios de ICD no mesmo doente foram considerados eventos distintos se separados por 3 meses e recorrentes se ocorreram menos de 8 semanas após o início do episódio anterior, assegurando a resolução de sintomas após o tratamento da infeção prévia. A infeção por *C. difficile* adquirida na comunidade foi definida como ICD numa pessoa que não pernoitou num hospital nos 3 meses que antecederam o diagnóstico. Os critérios de gravidade aplicados foram os descritos nas *guidelines* da *American College of Gastroenterology*. [13]

Foi obtida informação dos doentes, a partir do processo clínico eletrónico, referente à idade, sexo, tempo de internamento e internamentos anteriores, existência de outras infeções no mesmo internamento, manifestações clínicas, antibioterapia nos 3 meses que antecederam o diagnóstico da infeção, uso crónico de inibidores da bomba de protões (IBP), imunossupressão, tipo, tempo e dose de tratamento para a ICD. Os imunodeprimidos contemplam os doentes transplantados, infetados por vírus da imunodeficiência humana (VIH), a realizar quimioterapia e os doentes em tratamento com corticóides, azatioprina, metrotexato e infliximab.

Patogenia e fatores de virulência

O *C. difficile* é uma bactéria Gram positiva, anaeróbia obrigatória com forma de bacilo, formadora de esporos e produtora de toxinas. É transmitida entre humanos por via fecal-oral. Foi isolada pela primeira vez em 1935, nas fezes de recém-nascidos saudáveis.[14] Pensava-se que este bacilo seria um comensal, porém é, na realidade, uma bactéria patogénica entérica, com distribuição mundial.[4]

O lúmen do cólon é um ambiente anóxico permitindo que bactérias anaeróbias obrigatórias, como o *C. difficile*, sobrevivam e, em condições favoráveis proliferem, produzindo toxinas e provocando danos no epitélio intestinal.[15] Esta bactéria não é invasiva e a infeção noutras locais é extremamente rara.[4, 16]

A ICD é transmitida por esporos que são resistentes ao calor, antibióticos e ácidos, incluindo acidez gástrica. São também resistentes a desinfetantes de base alcoólica o que favorece a sua disseminação.[4, 15] Os esporos são abundantes em serviços de saúde e são encontrados em menor número no ambiente e produtos alimentares, possibilitando a transmissão nosocomial ou da comunidade.[4]

Quando ingeridos, ao atingir o trato gastrointestinal inferior, os esporos germinam devido à diminuição da concentração de oxigénio e às substâncias presentes no intestino, maioritariamente os ácidos biliares primários. Nessa altura, passam a constituir células vegetativas em replicação ativa.[15, 17]

A microbiota intestinal, através de mecanismos diretos e indiretos, apresenta um papel determinante no sucesso da colonização por *C. difficile*. A flora comensal é responsável pela conversão de ácidos biliares primários em secundários. O aumento da concentração dos últimos, no lúmen intestinal, cria um ambiente tóxico para as formas vegetativas. Além disso, a microbiota intestinal inibe o crescimento do *C. difficile* por privar os esporos de um fator de germinação importante.[15]

Desta forma, perante uma microbiota fecal incólume, a exposição a esporos de *C. difficile* resulta potencialmente num portador transitório com culturas positivas, mas sem estabelecimento de colonização estável.[18] A disrupção da mucosa, pela antibioterapia por exemplo, permite a multiplicação desta bactéria, que por sua vez pode desencadear as manifestações clínicas.[15, 17]

A capacidade do *C. difficile* causar colite depende dos fatores de virulência, incluindo as toxinas, capacidade de aderência e fatores de motilidade.[15] Em resposta à limitação de nutrientes, o *C. difficile* produz duas proteínas, exotoxinas, codificadas pelos genes TcdA e TcdB (ToxA e ToxB). A endocitose dessas toxinas promove necrose das células epiteliais, perda da função da barreira intestinal e colite neutrofílica.[4, 15] Em consequência, há perda da integridade da membrana epitelial intestinal e ativação da resposta inflamatória do hospedeiro.[15]

As ToxA e ToxB são determinantes major de virulência, de tal forma que estirpes não toxicogênicas não são patológicas.[14]

Em contraste, nem todos os indivíduos infectados por uma estirpe toxigênica desenvolvem doença. Alguns permanecem portadores assintomáticos, com potencial de disseminar esporos, e o seu papel na transmissão da infecção não está bem determinado.[18] Até 80% das crianças até ao seu primeiro ano de vida, estão colonizadas com *C. difficile* e raramente desenvolvem doença.[19] Sabe-se que a colonização com espécies toxigênicas de *C. difficile* em crianças estimula uma resposta imunitária duradoura que parece ser protetora contra episódios de ICD ao longo da vida. [4]

Apresentação clínica e diagnóstico

A ICD manifesta-se por diarreia clinicamente significativa [10], mais comumente aquosa do que sanguinolenta que pode estar associada a dor abdominal, febre e leucocitose.[12] Fezes não moldadas que tomam a forma do recipiente onde são colocadas, o correspondente ao tipo 5-7 na escala de Bristol, estão incluídas na definição de diarreia.[20] Os critérios de diarreia clinicamente significativa variam e, no contexto da ICD, consistem numa alteração sustentada do número de dejetos e/ou consistência das fezes e/ou cólica abdominal num doente sem outra causa identificada.[10] Nesta infeção, as fezes podem apresentar um cheiro fétido que pode contribuir para a suspeição inicial de ICD.[16]

Os cenários de *ileus* e megacólon tóxico são também compatíveis com ICD. Na presença de *ileus* adinâmico, a ICD pode ocorrer sem diarreia.[20, 21] O megacólon tóxico é pouco frequente e está associado a uma elevada taxa de mortalidade que pode atingir os 80%.[22] Manifesta-se por distensão cólica e sinais de resposta inflamatória sistémica grave.[20]

O diagnóstico de ICD baseia-se numa combinação de sinais e sintomas, confirmados pela (1) presença de toxinas ou estirpes de *C. difficile* produtoras de toxinas nas fezes, na ausência de outra causa, [20] ou pela (2) visualização direta de pseudomembranas, na colonoscopia ou no exame histológico.[13, 23] O correto diagnóstico da diarreia associada a antibióticos é importante, uma vez que a ICD ocorre em apenas 15% a 39% dos casos.[23, 24]

Podem ser usados diferentes métodos para o diagnóstico laboratorial da ICD, porém não foi estabelecido nenhum teste *standard*. [13, 20] Estes testes podem ser de 3 tipos: deteção de produtos bacterianos, testes moleculares de amplificação de ácidos nucleicos e exame cultural de fezes.[25] Os testes laboratoriais só devem ser aplicados em amostras de fezes não moldadas. Os casos em que há suspeita de *ileus* são uma exceção e o laboratório deve ser alertado dessa condição clínica particular.[13, 23]

Os testes laboratoriais têm evoluído rapidamente na última década, em particular os testes de deteção de GDH nas fezes e o desenvolvimento dos testes de amplificação de ácidos nucleicos (TAAN), como a PCR (polimerase chain reaction) para deteção de estirpes produtoras de toxinas. [13]

O GDH é uma enzima produzida pelo *C. difficile* em grande quantidade quando comparada com as toxinas A e B. Apesar de sensível, é pouco específica para ICD, uma vez que pode ser produzida por estirpes toxigénicas ou não toxigénicas. Adicionalmente, podem ocorrer reações

cruzadas com outras espécies de *Clostridium*. Assim, pela sua elevada sensibilidade, a deteção de GDH tem sido usado como método de rastreio integrado como parte de um algoritmo.[13, 23]

Uma amostra negativa para a presença de GDH não prossegue no algoritmo, sendo considerada negativa para a presença de *C. difficile*. As amostras positivas para a presença de GDH devem ser submetidas a um novo teste laboratorial, um teste EIA ou TAAN. Este algoritmo permite identificar especificamente as estirpes de *C. difficile* produtoras de toxinas.[13]

Os TAAN podem ser usados isoladamente, por apresentarem elevadas sensibilidade e especificidade. No entanto, o seu custo é muito elevado.[13] Os testes culturais são considerados os mais sensíveis e permitem a cultura exclusiva de estirpe toxigénicas. Porém, os 2-3 dias necessários para obtenção de um resultado limitam a sua utilização.[23]

No CHUP é utilizado o teste C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®, um teste EIA que deteta simultaneamente o GDH e a toxinas A e B do *C. difficile*, [18] implementando os dois passos do algoritmo recomendado.

Em Portugal, segundo a norma da Direção Geral da Saúde de 2014, deve efetuar-se estudo microbiológico de fezes, para diagnóstico ICD, em doentes hospitalizados com diarreia, internados há mais de 72h, e nos doentes admitidos com diarreia que não pode ser atribuída, de forma clara, a uma patologia subjacente ou a uma terapêutica. O estudo microbiológico das fezes deve ser efetuado em todos os doentes com diarreia, com idade igual ou superior a 65 anos, se se suspeitar de infeção por *C. difficile* adquirida na comunidade.[25]

Após o tratamento, não está recomendado realizar nenhum teste laboratorial no sentido de verificar a erradicação da bactéria, uma vez que testes EIA para toxinas e o teste cultural podem permanecer positivos durante 30 dias em doentes com resolução dos sintomas.[13, 20]

Infeção recorrente

O aumento da incidência ICD não ocorre apenas nos episódios de infecção primária, mas também na infecção recorrente.[26] A recidiva ocorre em cerca de 20% dos doentes e o risco de novas recorrências aumenta para 40- 65% após um primeiro episódio.[13] A ICD recorrente é mais difícil de tratar e está associada a mais hospitalizações, pior prognóstico e custos mais elevados, quando comparada com o episódio inicial.[27]

Os mecanismos propostos para a recorrência da infecção são a reexposição ou reativação dos esporos no cólon, em doentes cuja resposta imunitária foi deficiente ou cuja função de barreira da microbiota intestinal está enfraquecida.[4, 28] A perda de diversidade da microbiota tem sido frequentemente apontada como o principal fator da infecção recorrente, [13, 20] sendo progressiva e proporcional ao número de ciclos de antibioterapia realizados. Há evidência que nestes doentes existe uma disbiose marcada e o seu tratamento com transplante de microbiota fecal permite normalização da microbiota em 24 horas, [29] sendo esta a terapêutica com maior taxa de sucesso.[13, 20]

A administração de outros antibióticos durante ou após o primeiro tratamento de ICD é considerado um fator de risco para doença recorrente. Além disso, o tratamento da primeira infecção com metronidazol associou-se, em alguns estudos, a taxas de recorrência mais elevadas.[23]

Fatores de risco

O fator de risco mais importante para a ICD é a antibioterapia, sendo que virtualmente todos os antibióticos já foram implicados. Os mais frequentemente associados à ICD são a ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas, clindamicina e praticamente todas as fluoroquinolonas.[16, 30] Paradoxalmente, vários antimicrobianos que predis põem à infeção mostram, pelo menos, alguma actividade *in vitro* contra o *C. difficile*. A administração de metronidazol, por exemplo, pode precipitar a ICD.[31]

A fragilização da microbiota fecal, decorrente do uso de antibióticos, constitui um fator de risco major para adquirir ICD.[16] A transmissão ocorre, primariamente, em hospitais e instituições de cuidados continuados, onde a exposição aos antibióticos e a contaminação ambiental são mais frequentes.[32]

A idade avançada é outro fator de risco importante.[23] Além da idade, existem alguns grupos considerados em maior risco para ICD: os transplantados, doentes oncológicos ou a realizar quimioterapia, doentes com doença renal crónica e os infetados com VIH.[4, 23] Os doentes com doença inflamatória intestinal (DII) são um grupo especialmente susceptível.[33] Nesta população, a ICD é uma fator comum de exacerbação da DII, está associada a um aumento do risco de internamento e é uma causa de morbilidade e mortalidade significativa.[33, 34]

Os doentes com ICD são tendencialmente mais idosos, têm mais comorbilidades e doença mais agravada à admissão, tendo *ad initium* um risco de mortalidade superior.[8] A hospitalização e a permanência em lares ou instituições de saúde também são fatores de risco.[31]

A influência da supressão ácida na ICD está ainda por determinar. Teoricamente, a supressão da acidez gástrica deveria aumentar o número de microorganismos que atinge o cólon, porém os esporos do *C. difficile* são ácido-resistentes e mantêm-se viáveis mesmo no baixo pH gástrico.[4] O uso de fármacos que reduzem a acidez gástrica permanece um fator de risco controverso.[16] Estudos mais recentes evidenciam o papel dos IBP como factor de risco para ICD adquirida na comunidade. [17, 35]

Alterações da epidemiologia na última década

A partir de 2002, ano em que foi documentado nos EUA um aumento da gravidade da ICD, verificou-se um aumento contínuo da frequência da ICD no Canadá, Estados Unidos e Europa.[16]

Este aumento dramático da frequência e gravidade da ICD, na primeira década do século XXI, resultou num maior número de admissões na unidade de cuidados intensivos, colectomias e mortes.[4, 32] Uma explicação para tal foi a emergência de uma estirpe epidémica com maior virulência e/ou resistência antibiótica.[32]

Foram examinadas amostras de *C. difficile*, colhidas a partir de oito instituições diferentes, durante surtos decorridos entre 2000 e 2003. Em cinco dessas instituições, uma única estirpe esteve presente em mais de metade dos casos e foi responsável por 82% das amostras de fezes colhidas num surto no Québec.[14] Esta estirpe foi identificada inicialmente na década de 80 e posteriormente designada por BI/NAP1/027.[14, 32] O aumento do número de ICD tem sido largamente, mas não exclusivamente, atribuído à sua propagação.[16]

Esta estirpe híper virulenta é caracterizada por alto nível de resistência à fluoroquinolona, esporulação eficiente, elevada produção de toxinas e taxa de mortalidade três vezes superior à associada a estirpes menos virulentas.[4] Além disso, a BI/NAP1/027 expressa uma outra toxina, designada toxina binária ou *C. difficile* transferase.[15] O papel desta toxina na virulência não foi comprovado, embora haja uma associação entre a sua presença e um aumento da mortalidade dos doentes.[15]

Infeção por *C. difficile* adquirida na comunidade

A ICD afeta predominantemente os mais idosos, hospitalizados ou institucionalizados, sendo a maioria das infeções nosocomial.[4, 14] No entanto, o número de pessoas infetadas em idade jovem, previamente saudáveis e sem exposição a serviços de saúde é crescente.[14] Atualmente, mais de metade dos casos de ICD podem ter a sua apresentação inicial na comunidade.[10]

Por definição, a infeção adquirida na comunidade ocorre quando os sintomas surgem fora de uma instituição de cuidados de saúde ou menos de três dias após a admissão, numa pessoa que não pernitou numa instituição de saúde nas 12 semanas prévias ao diagnóstico.[13]

A percentagem de casos de ICD adquirida na comunidade varia consoante os estudos, rondando os 20% dos casos. [36] Quando comparada à infeção associada a cuidados de saúde, parece apresentar taxas de recorrência e de mortalidade inferiores, o que é justificado pela idade mais jovem e menor número de comorbilidades nos doentes infetados. Esta tendência não é corroborada por todos os estudos e até 40% destes doentes requerem hospitalização.[4, 37]

Um grande estudo que analisou doentes com ICD adquirida na comunidade demonstrou que cerca de 36% dos doentes não apresentavam exposição a antibióticos nas 12 semanas precedentes.[35] Assim, os meios de aquisição de infeção adquirida na comunidade permanecem por esclarecer.[4]

Segundo outro estudo recente, 82% dos doentes com ICD associada à comunidade reportaram o contacto com algum serviço de saúde, médico ou dentista, nas 12 semanas antes da colheita de fezes positiva.[35] Assim, conclui-se que a maioria dos doentes esteve exposta a instituições de saúde, mesmo que em regime ambulatorio, antes do aparecimento da doença.[35, 37]

Podem ser enumeradas algumas fontes na comunidade potenciais causadoras de ICD, como o solo, a água, a carne e os vegetais. Não há evidências conclusivas que a contaminação dos alimentos cause doença em humanos.[16] Um estudo recente não encontrou associação entre a ICD e a exposição a alimentos ou animais [36], apesar de alguns estudos documentarem a presença de *C. difficile* em 0 a 10% das amostras de carne.[35]

Prevenção e medidas de controlo

Em caso de forte suspeita clínica, a implementação de medidas de prevenção e controlo da transmissão cruzada não deve ser adiada até à confirmação laboratorial do diagnóstico [25] e deve ocorrer mesmo antes do início da terapêutica. As precauções de contacto devem existir em todos os doentes com ICD.[20] Os portadores assintomáticos não têm ICD mas podem disseminar esporos. Apesar disso, não há dados que suportem a detecção ou implementação de medidas isolamento nestes indivíduos.[10]

As medidas de proteção consistem no isolamento do doente, se possível num quarto privado. No caso de haver mais que um doente infetado, estes devem ser colocados em coorte. Está recomendada a utilização de bata e luvas pelos profissionais de saúde aquando do contacto com o doente ou do ambiente circundante, sendo considerado um método barreira eficaz.[10, 16, 20] Tanto a pele como o ambiente dos doentes colonizados ficam contaminados e estudos sugerem que a contaminação das mãos dos profissionais de saúde pode ocorrer em até 59% dos casos, o que enfatiza a necessidade dos meios de proteção.[10, 38] A lavagem tradicional das mãos com sabonete e água deve ser preferida em oposição às habituais soluções alcoólicas, uma vez que o álcool não mata os esporos de *C. difficile*. [16, 32, 38]

A utilização de bata e luvas é recomendada também em familiares e outras visitas que entrem no quarto de um doente com ICD.[13] O risco das visitas transmitirem *C. difficile* a outros doentes internados depende, provavelmente, do contacto com estes e com o ambiente. A lavagem das mãos que deve ser altamente encorajada à entrada e saída do quarto do doente, ainda mais se não forem usados os métodos barreira.[10]

Uma vez que a contaminação da pele e a disseminação de esporos de *C. difficile* persistem após resolução da diarreia, [39] o momento de descontinuação das precauções de contacto não é consensual. As precauções de contacto devem ser mantidas, pelo menos, durante a duração da diarreia [13], embora alguns autores recomendem a continuação das precauções até 48 horas após a cessação da diarreia ou mesmo até ao fim do internamento.[10, 13]

A limpeza e desinfeção do equipamento e do ambiente hospitalar devem ser asseguradas. O equipamento médico em contacto direto com o doente, como o manguito do medidor de pressão arterial ou o estetoscópio, deve ser exclusivo do doente ou lavado após a sua utilização.[32] Idealmente devem ser usados materiais descartáveis.[13]

Os produtos de limpeza amoniacais habitualmente usados não são esporicidas e podem mesmo promover a esporulação, o que dificulta a redução da contaminação do ambiente hospitalar por esporos de *C. difficile*. [16] Assim, devem ser tomadas medidas adicionais para eliminação dos esporos, que incluem, a utilização de hipoclorito de sódio, vulgo lixívia, diluída 1:10 em água. [10, 32]

Além das medidas de precaução de contacto, uma correta estratégia de antibioterapia deve ser encorajada e é essencial num programa de prevenção da ICD. A restrição da prescrição de antibióticos com alto risco para a ICD, como clindamicina, cefalosporinas e fluorquinolonas, deve ser complementada com uma minimização da antibioterapia desnecessária. [10, 16] Estas medidas têm sido associadas a uma redução da incidência da ICD. Paralelamente, deve assegurar-se o que o tratamento para a ICD é feito de acordo com a gravidade, o que melhora o seu prognóstico. [10]

O papel dos probióticos na prevenção da ICD é incerto e atualmente não há evidência suficiente que suporte o seu uso. [12, 16] Apesar dos vários estudos que demonstram redução do número de casos de ICD em doentes que realizam antibioterapia e probióticos [40], estes resultados não são consistentes. [24, 41]

Tratamento

Os antibióticos metronidazol e vancomicina têm sido usados como baluarte do tratamento da ICD desde a década de 70 e, apesar do seu uso muito difundido, não estão relatadas resistências clinicamente importantes.[4] Esta terapêutica está limitada pelo largo espectro de ação e a consequente perturbação da microbiota fecal, associada a elevadas taxas de recorrência.[7] Recentemente têm surgido avanços significativos no tratamento desta infeção, com o aparecimento de novas estratégias terapêuticas.[12]

Em situações de alta suspeição clínica, tal como as medidas de prevenção, o tratamento dirigido não deve ser adiado até à confirmação laboratorial.[13, 25] A primeira medida recomendada é a suspensão do antibiótico que potencialmente promoveu o desenvolvimento da ICD, uma vez que a sua manutenção está associada a maior risco de recorrência.[13, 20] Os dois antibióticos de primeira linha para o tratamento da ICD são o metronidazol e a vancomicina, *per os*. [13, 20]

O metronidazol revelou-se efectivo na indução de resposta clínica (90% vs. 98%, quando comparado com vancomicina) e tem baixo custo. A sua via de administração mais comum é a oral. Se tal não for possível, pode ser administrado por via endovenosa, uma vez que apresenta excreção biliar e exsudação intestinal aumentada durante a ICD.[12] Embora se acreditasse que o metronidazol estaria associado a menor risco de seleção de *Enterococcus* resistentes à vancomicina, alguns estudos demonstraram que ambos promovem a aquisição destas estipes, pelo que nenhum destes antibióticos confere vantagem neste aspeto.[13]

Vários estudos sugerem que a vancomicina é superior ao metronidazol particularmente na doença severa.[4] Desta forma, o metronidazol está recomendado na infeção ligeira a moderada e a vancomicina na doença grave. Este último fármaco quando administrado por via oral é pouco absorvido. Consequentemente apresenta níveis elevados no lúmen intestinal, durante o curso da antibioterapia e os seus efeitos sistémicos são praticamente desprezáveis.[23] Por oposição, o metronidazol é absorvido no trato gastrointestinal e, os seus níveis luminais, dependentes da exsudação da mucosa, diminuem à medida que a inflamação e a diarreia resolvem.[12]

A fidaxomicina é um antibiótico novo e surge como novidade no tratamento da ICD.[42] É um macrólido que inibe a síntese bacteriana de ácidos nucleicos. [7] Só existe na formulação

oral, sendo a sua absorção sistêmica mínima. Está, por isso, associado a baixa incidência de efeitos laterais.[43]

A fidaxomicina tem uma ação bactericida contra o *C. difficile* mas reduzida atividade contra espécies comensais entéricas, especialmente as bactérias que conferem resistência à colonização do *C. difficile* (*bacteroides*, bacilos anaeróbios Gram negativo e outras espécies de *Clostridium*).[7] Assim, apresenta um espectro de ação menor quando comparado com a vancomicina ou o metronidazol, causando menos distúrbios na microbiota comensal anaeróbia e menor aquisição e colonização por Enterococos resistentes à vancomicina ou diferentes espécies de *Candida*. [20, 43]

Sendo a recorrência uma grande preocupação na ICD, o grande benefício da fidaxomicina é a diminuição da taxa de recidiva, que se verifica sobretudo em grupos de doentes com estirpes não BI/NAP1/027.[43] A utilização deste fármaco está amplamente limitada pelo preço elevado.[7] Apesar de substancialmente mais caro, revela-se benéfico na análise custo-eficácia em certas situações, como infeção recorrente ou severa causada por estirpes não BI/NAP1/027. [7, 42]

As vantagens da fidaxomicina são evidenciadas em vários estudos e incluem menos recorrências e readmissões.[44, 45] Outro estudo demonstrou que a exposição a outros antibióticos concomitantes durante o tratamento da ICD reduz a taxa de cura, em doentes tratados com vancomicina. Esta diminuição não se verificou em doentes tratados com fidaxomicina.[45]

De referir algumas limitações aos benefícios apresentados pela fidaxomicina, a saber, a falta de plausibilidade biológica que permita explicar a sua superioridade numa determinada estirpe; uma vez que não há diferenças na concentração inibitória mínima entre NAP/BI/027 e não NAP/BI/027, e tanto a vancomicina como a fidaxomicina têm espectros de ação semelhantes contra bactérias Gram positivas. Além disso, alguns doentes medicados com este fármaco revelaram evolução de estirpes de *C. difficile*, com aumento da concentração inibitória mínima, devido a uma mutação na RNA polimerase B. Desta forma, conclui-se que são necessários mais estudos para esclarecer o seu verdadeiro papel na redução de recorrências e a sua segurança no que concerne ao aparecimento de resistências ao fármaco.[13]

O uso de fármacos anti-peristálticos para o controlo da diarreia, deve ser limitado ou mesmo evitado, já que pode ocultar sintomas e precipitar complicações.[13]

O tratamento da ICD é realizado consoante a gravidade da infeção.[13, 20] Uma correta estratificação dos doentes baseada nos critérios, clínicos e analíticos de gravidade, apresentados garantirá o seu tratamento adequado.[13]

Tratamento da doença ligeira a moderada

No tratamento da doença leve a moderada está preconizada a administração de metronidazol oral, 500 mg três vezes ao dia, durante 10 dias.[13, 20] Este fármaco revelou igual eficácia na indução de resposta clínica, quando comparado com a vancomicina, e apresenta um custo substancialmente inferior, remetendo o uso de vancomicina à doença grave.[13, 20]

A vancomicina está recomendada: na impossibilidade de administração de metronidazol, em caso de alergia, por exemplo; na ausência de melhoria clínica após 5 a 7 dias de antibioterapia com metronidazol; ou caso surjam sinais de doença grave devendo considerar-se escalada de terapêutica. A dose estabelecida é de 125mg, quatro vezes ao dia, durante 10 dias.[13, 20] A vancomicina deve ainda ser usada em grávidas ou mães a amamentar.[13]

A fidaxomicina pode ser usada em alternativa na doença ligeira a moderada com posologia 200mg *per os*, duas vezes ao dia, durante 10 dias.[13, 20]

Tratamento da doença grave ou complicada

A definição ICD grave não é consensual e varia consoante os estudos. A determinação da gravidade da doença e as decisões terapêuticas que daí advêm ficam à responsabilidade do médico.[12] Um episódio de ICD é considerado de gravidade ligeira ou moderada se se apresentar com diarreia, sem outros sintomas de doença grave.[13]

A gravidade é definida pela ESCMID como um episódio de ICD que apresente sinais ou sintomas de colite grave ou tenha uma evolução complicada: necessidade de admissão numa UCI, colectomia ou morte resultantes dos efeitos sistémicos das toxinas do *C. difficile*. Os sinais e sintomas que se correlacionam com a gravidade da colite estão descritos na **Tabela 1**. Os doentes sem sinais de colite grave mas com idade superior a 65 anos, comorbilidades importantes, admissão numa UCI ou imunodeficiência, são considerados de alto risco para infeção grave.[20]

Os critérios de gravidade estabelecidos pela ACG são semelhantes, ainda que seja definida uma nova categoria: doença grave e complicada.[13] Os critérios para esta divisão estão na **Tabela 1.**

Critérios de gravidade da ICD	
ACG[13]	ESCMID[20]
Severa Albumina sérica <3g/dl e um dos seguintes: Leucócitos ≥15000 cel./mm ³ Dor abdominal	Exame físico Febre ≥38,5 ⁰ C ou <i>shivering</i> Instabilidade hemodinâmica Falência respiratória com necessidade de ventilação mecânica Sinais e sintomas de peritonite ou ileus
Severa e complicada Pelo menos um dos seguintes, atribuível à ICD: Admissão UCI pela ICD Hipotensão com ou sem necessidade de vasopressores Febre ≥38,5 ⁰ C <i>Ileus</i> ou distensão abdominal significativa Alteração do estado mental Leucócitos ≥35000 cel/mm ³ ou <2000 cel/mm ³ Lactato sérico >2,2 mmol/l Falência orgânica (ventilação mecânica, falência renal, etc.)	Testes laboratoriais Leucócitos ≥15000 cel./mm ³ Desvio esquerdo, neutrófilos em banda >20% Aumento da creatinina sérica basal >50% Lactato sérico ≥5mM Albumina sérica <3g/dl Colonoscopia Colite pseudomembranosa Exames imagem Distensão >6 cm do cólon transversal Espessamento da parede cólica Encravamento gordura pericólica Ascite

Tabela 1 – Critérios de gravidade segundo diferentes *guidelines*.

O tratamento da doença grave deve incluir, além da antibioterapia, medidas de suporte que incluem a fluidoterapia, reposição dos electrólitos e a profilaxia do tromboembolismo venoso.[13] A vancomicina mostrou-se superior ao metronidazol, nestes doentes.[20] Apesar de haver recomendações no sentido de prescrever doses elevadas de vancomicina, não há evidência suficiente que suporte a administração de doses superiores a 125mg, quatro vezes por dia, durante 10 dias, na ausência de *ileus*. A fidaxomicina *per os*, é uma alternativa, 200mg, quatro vezes ao dia, durante 10 dias.[13, 20]

Na infeção complicada, o tratamento recomendado é a associação de vancomicina, na posologia recomendada para doença ligeira a moderada, com metronidazol por via endovenosa, 500mg três vezes ao dia. [13]

Existem outros antibióticos alternativos para os doentes com ICD grave ou complicada. A tigeciclina é um antibiótico recente, análogo da minociclina, com largo espectro de ação. A tigeciclina foi administrada em doentes sem resposta ao tratamento com vancomicina ou metronidazol, como terapêutica de resgate. Tal como a fidaxomicina, não há evidência que suporte a recomendação deste dois fármacos na ICD complicada.[13]

A capacidade do metronidazol endovenoso atingir o cólon depende da sua secreção biliar no duodeno e do aumento do trânsito intestinal num contexto de diarreia. Apesar da vancomicina administrada entericamente não ser absorvida, a sua chegada ao cólon ou ao local da ICD está dificultada na presença de íleo paralítico; o mesmo se verifica para o metronidazol. Assim, num cenário de *ileus*, a instilação direta de vancomicina no cólon, via enema, colonoscopia ou tubo retal revelou-se uma estratégia eficaz, em combinação com metronidazol endovenoso e vancomicina *per os*. [13]

A tomografia computadorizada (TC) abdomino-pélvica permite, em conjunto com outros achados, determinar a gravidade e extensão da doença. A sua realização está recomendada em doentes com doença complicada, já que permite detectar espessamento da parede cólica, ascite, megacólon, *ileus* ou perfuração. [13] Alguns achados da TC podem sugerir a necessidade de colectomia ou, em alguns casos, podem ser preditores de mortalidade.[46]

Tratamento da recorrência

A melhor estratégia terapêutica para a infeção recorrente não está bem estabelecida, uma vez que não há ensaios clínicos randomizados realizados especificamente neste contexto. O tratamento recomendado pelas *guidelines* não é eficaz na prevenção de recidivas subsequentes e verifica-se um aumento dos doentes com múltiplas recorrências.[26]

Consoante as *guidelines* consultadas, o tratamento da primeira recorrência pode ser realizado com o mesmo regime do episódio inicial [13] ou com vancomicina ou fidaxomicina. [20] O uso de vancomicina é preferido em episódios de recorrência com maior gravidade qualquer que seja o tratamento da primeira infeção.[13] O metronidazol não ser usado além da primeira recorrência pelo risco de neurotoxicidade.[23] O uso da fidaxomicina nas múltiplas recorrências ainda não está bem estabelecido.[11]

No tratamento da primeira recorrência, a eficácia da vancomicina revelou-se superior ao metronidazol, 82,3% e 67,6%, respetivamente.[12] A segunda recorrência deve ser tratada com regime pulsado de vancomicina: ciclo *standard* com duração de 10 dias, 125mg, quatro

vezes ao seguido de um regime em dias alternados: 125mg a cada 3 dias, até perfazer dez doses ou 3 semanas.[13, 20]

No terceiro episódio de recorrência deve ser ponderado o tratamento com o transplante de microbiota fecal, que será abordado num tópico mais à frente.[13, 20]

Tratamento cirúrgico da ICD complicada

A maioria dos doentes com ICD responde favoravelmente ao tratamento médico. No entanto, cerca de 3 a 10% dos doentes progride para colite fulminante, com toxicidade sistémica e falência orgânica.[47] A ICD complicada apresenta-se como um desafio ao tratamento, em grande parte pela incapacidade de prever em que doentes a terapêutica médica irá falhar e pela falta de consenso nas indicações para realização de cirurgia, com exceção da perfuração.[13]

As taxas de mortalidade são elevadas, podendo variar entre 19% a 71%, dependendo do estado do doente no momento da cirurgia.[20] No entanto, a colectomia na colite fulminante está associada a menor mortalidade quando comparada com o tratamento conservador e a melhor sobrevida, se realizada precocemente.[12, 20] A cirurgia surge como uma terapêutica de última linha, o que pode justificar os resultados desfavoráveis que lhe estão associados.[13, 20]

A intervenção cirúrgica convencional é a colectomia com ileostomia terminal e está indicada em doentes com colite fulminante sem resposta ao tratamento conservador e com evolução para doença sistémica, peritonite ou megacólon tóxico e perfuração.[20]

Em 2011 descreveu-se uma cirurgia alternativa à colectomia que consiste na criação de uma ileostomia em ansa que permite a lavagem cólica.[48] Inicialmente este procedimento mostrou-se eficaz na redução da mortalidade quando comparado com o grupo que realizou colectomia, tendo a grande vantagem de preservar o cólon em mais de 90% dos doentes.[13, 20, 48] Esta técnica permite a lavagem anterógrada do cólon, através da ileostomia, com grande volume de polietileno glicol ou solução hidroelectrolítica, sendo o efluente colhido por via retal.[13, 20, 48] A colocação de um cateter no membro da ileostomia permite a administração de bólus de vancomicina no pós-operatório. Deve ser complementada com a administração de metronidazol endovenoso, durante 10 dias.[13, 20]

Esta nova abordagem é mais simples e menos invasiva, permite a preservação do cólon e redução da mortalidade.[48] No entanto, estudos mais recentes não comprovam os benefícios de redução da mortalidade inicialmente apresentados.[49] As vantagens da ileostomia em ansa residem no facto de se poder realizar mais precocemente no curso da doença, evitando a colectomia e os seus efeitos adversos a longo prazo.[13, 20]

Outras terapêuticas e avanços no tratamento da ICD

Tal como na prevenção, atualmente não há evidência suficiente que apoie o uso de probióticos como adjuvante ou em exclusivo no tratamento da ICD.[13, 20, 50] Apesar disso, a sua recomendação é frequente em alguns países [34] e a administração de probióticos pode ser razoável em doentes não imunodeprimidos ou sem comorbilidades significativas.[51]

As toxinas do *C. difficile* no lúmen intestinal desencadeiam a ICD, sendo a própria bactéria inócua e não invasiva. Esta observação impulsionou o desenvolvimento de compostos, colestiramina e colestipol, que sequestram as toxinas sem alterar a flora intestinal nem causar resistências antibióticas. No entanto, os resultados iniciais foram desanimadores e o seu uso ficou restrito a doentes que não toleravam ou não respondiam favoravelmente à antibioterapia.[31] O telovamer foi desenvolvido especificamente pela sua alta afinidade às toxinas A e B, não apresentando actividade antibiótica. Inicialmente os resultados eram promissores, mas os estudos de fase III revelaram uma taxa de cura inferior à da vancomicina ou do metronidazol quando usado exclusivamente no tratamento da ICD.[12, 52] Estão em curso investigações de novas formulações deste fármaco.[31]

A resposta imunitária à colonização por *C. difficile* é um fator chave para a duração e severidade da ICD.[12] Pacientes hospitalizados expostos a antibióticos, que se tornaram portadores assintomáticos, apresentavam títulos plasmáticos de IgG anti Tdca mais elevados, quando comparados com doentes que desenvolveram ICD.[53]. Paralelamente, estudos demonstram que a imunização passiva com anti-corpos monoclonais contra as toxinas A e B do *C. difficile*, em pacientes com ICD, reduzia a taxa de recorrência.[54] Recentemente, um estudo evidenciou uma redução substancial da taxa de recorrência com administração de bezlotoxumab, um anti-corpo humano monoclonal capaz de se ligar e neutralizar a toxina B.[27]

A vacinação, de toxóides A e B do *C. difficile*, desencadeia uma forte resposta imunogénica e parece constituir uma estratégia eficaz e relativamente barata na prevenção da ICD.[55] Esta foi a primeira vacina a ser testada em humanos.[56] Esta forma de imunização, apesar de prevenir o desenvolvimento de ICD, não impede a colonização e, por isso, não tem papel na redução de produção de esporos ou interrupção da transmissão. Vários fatores de adesão do *C. difficile* estão a ser estudados como potenciais vacinas. [57]

A utilização destas terapêuticas não está descrita em Portugal.

A antibioterapia tradicional para a ICD, metronidazol e vancomicina, está limitada pelo seu amplo espectro de ação e perpetuação da perturbação da microbiota intestinal. Consequentemente, as elevadas taxas de recorrência sugerem a necessidade de novas terapêuticas. Existem alguns antibióticos em desenvolvimento, como o ridinilazole, surotomicina ou cadazolide, que apresentam menor espectro de ação e parecem apresentar menores taxas de recorrência.[7]

Transplante microbiota fecal

A microbiota intestinal é constituída por cerca de 10^{14} bactérias que estabelecem uma relação simbiótica com o organismo. A sua densidade aumenta ao longo do sistema gastrointestinal, apresentando o cólon ascendente maior número de bactérias, predominantemente *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. [58] Num adulto saudável, esta população bacteriana pesa cerca de um quilo e intervém em funções diversas como metabolismo energético, funcionamento do sistema imunitário ou do sistema nervoso. [59]

A microbiota fecal confere resistência à colonização de bactérias patogénicas e é considerada determinante na patogénese ICD. [4] Na maior parte dos casos, o *C. difficile* coloniza e infeta o trato intestinal após um distúrbio da microbiota causado por um antibiótico. O transplante de microbiota fecal (TMF) é terapêutico uma vez que permite restabelecer a flora comensal. [12] Verificou-se que após o TMF havia restituição da estrutura da comunidade microbiana, com redução das *Proteobacteria* e *Verrucomicrobia* e aumento *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, considerados normais no cólon. [60]

A eficácia do transplante fecal ocorre graças a dois mecanismos: a interação direta entre a microbiota do dador e o *C. difficile*, e, por outro lado, os efeitos fisiológicos e imunitários mediados pela microbiota, que são deletérios para o *C. difficile*. Na relação direta, a microbiota transplantada pode competir por nutrientes e recursos de colonização, interferir com os fatores de virulência e eliminar diretamente o *C. difficile*. [29]

O TMF não é um conceito terapêutico novo, havendo mesmo registos na antiga China imperial, da utilização de suspensões de matéria fecal administradas por via oral em doentes envenenados ou com diarreia grave. [58] A eficácia do TMF na resolução da diarreia associada aos antibióticos foi demonstrada mesmo antes da determinação do *C. difficile* como agente causador, [15] tendo sido realizado pela primeira vez no tratamento da ICD em 1958. [12]

Este procedimento consiste na introdução de matéria fecal de um dador saudável (devidamente preparada e processada) no trato gastrointestinal do doente, com o intuito de manipular a composição da microbiota intestinal e contribuir para o seu tratamento. [58] Ainda não está completamente estabelecido se a reconstituição da microbiota é o único efeito do TMF, uma vez que quando comparado com a administração de probióticos, o TMF é muito superior. Este facto pode ser explicado pela existência de uma diferente combinação de estirpes bacterianas

ou pela presença de outras substâncias, como ácidos biliares, proteínas ou bacteriófagos na matéria fecal transplantada, ainda pouco esclarecida.[61]

A ICD é a primeira infecção a ser tratada com recurso à bacterioterapia. [15] O TMF surge da necessidade de um tratamento eficaz na doença recorrente já que o sucesso estimado da antibioterapia na primeira recorrência é de 60% e este valor diminui em doentes com múltiplas recorrências.[28] Em 2013 foi publicado o primeiro ensaio randomizado que demonstrou a eficácia do TMF na infecção recorrente, no qual 15 dos 16 doentes submetidos a TMF ficaram curados após uma ou mais inoculações, concluindo-se a segurança e superioridade face à vancomicina, no tratamento da recorrência.[28]

A evidência até ao momento mostra que o TMF é um procedimento seguro e eficaz que permite cura rápida e sustentada da ICD, com taxa de cura a rondar os 90% [62-64], apesar de alguns estudos apresentarem resultados menos auspiciosos.[65]

Além dos episódios recorrentes, a recomendação do transplante fecal não se estende à infecção refratária ou ao primeiro episódio. Embora alguns estudos apresentem resultados promissores, é necessária mais investigação.[7]

Existem diferentes vias de administração: sonda nasogástrica, gastroduodenoscopia, enema ou colonoscopia.[12] No entanto, até ao momento não é claro que alguma via seja manifestamente superior ou mais segura.[58]

Logisticamente, o processamento do preparado fecal, bem como a seleção e escrutínio de dadores são os fatores potencialmente limitantes que mais influenciam a realização do TMF. [66] Em 2016, um ensaio clínico testou o uso de cápsulas de matéria fecal congelada para administração oral. Desta forma, o TMF é simplificado, podendo tornar-se mais aceite e disseminado.[11] A inoculação de material fecal criopreservado, colhido previamente, apresenta taxas de sucesso semelhantes quando comparado com inoculação de amostras frescas [67, 68] Assim, esta parece ser uma boa resposta à necessidade da disponibilidade precoce de um dador de fezes, que se revela o fator principal para facilitação da disseminação da recomendação do TMF.[66]

A criação de um banco de amostras analisadas e processadas, assegurando a identificação antecipada de dadores, permitiria o acesso mais fácil e quase imediato aos produtos a transplantar.[67] Adicionalmente, este método permite a redução de custos, pela diminuição do número de dadores e dos respectivos testes de rastreio, disponibilidade imediata do TMF e

possibilidade da sua realização em locais que onde não há laboratório para a preparação do material fecal.[68]

Além das questões logísticas, a existência de um consenso nacional parece contribuir para a promoção da realização do TMF. Na Europa, a regulação do TMF está ao critério de cada país.[66] Em Portugal, foi publicado um estudo experimental com TMF realizado em 6 doentes com infeção recorrente ou refratária, no CHVNG/E, em 2015, no qual cinco doentes ficaram curados com apenas uma inoculação.[69]

Os efeitos adversos do TMF são considerados escassos e ligeiros, os mais frequentemente relatados são diarreia transitória, dor abdominal ou náuseas e, mais tardiamente, obstipação ou flatulência.[63, 68] Os efeitos a longo prazo são ainda desconhecidos e configuram a maior preocupação relativamente a este tratamento.[63] Apesar de globalmente se considerar o TMF bem tolerado e relativamente inócuo, a modificação pouco ou nada seletiva da microbiota intestinal pode condicionar alterações biológicas cujas consequências ainda não foram bem esclarecidas.[58] Além disso, existe risco de transmissão de agentes infecciosos desconhecidos que poderão causar doença apenas anos mais tarde.[63]

A nossa realidade

Resultados

Em 2016, das 1123 amostras testadas para a pesquisa de *C. difficile*, 87 foram positivas. Foram excluídos dois doentes, um deles por idade inferior a 18 anos e outro por ter sido considerada troca de amostras. Identificaram-se 80 episódios independentes de ICD no CHUP, em 79 doentes. Verificou-se uma prevalência semelhante entre géneros e cerca de 62% dos doentes tinham idade superior a 65 anos. As características demográficas estão explanadas na **Tabela 2**. Nas 12 amostras analisadas para a identificação da estirpe, não foi detetada a presença de B12/NAPI/027.

O aparecimento dos sintomas associados à ICD ocorreu em meio hospitalar em 60 episódios e em ambulatório em 20. Foram identificados 5 casos de infeção associada à comunidade. O tempo mediano de internamento foi de 23,5 dias. O intervalo mediano entre a admissão e o diagnóstico de ICD foi de 13 dias. A ICD foi mais frequentemente diagnosticada no Serviço de Urgência (SU) ($n=19$), nos serviços de Medicina Interna ($n=12$), Cirurgia Vascular ($n=8$) e Neurologia ($n=6$).

Foram identificados 22 doentes com algum tipo de imunossupressão e cerca de 59% apresentava, pelo menos, uma das seguintes comorbilidades: diabetes mellitus, doença renal crónica, doença maligna ou cirrose. Cinco doentes tinham DII subjacente. Um número elevado de doentes ($n=75$) realizou antibioterapia nos 3 meses anteriores ao diagnóstico. As classes de antibióticos mais frequentes foram as penicilinas ($n=52/65\%$), maioritariamente amoxicilina e piperacilina, os carbapenemes ($n=30/37,5\%$), quinolonas ($n=16/20\%$) e cefalosporinas ($n=15/18,8\%$). A clindamicina foi usada apenas em dois doentes. Os IBP integravam a medicação crónica de 46 doentes.

Quanto à sintomatologia, virtualmente, todos os doentes se apresentaram com diarreia, que foi descrita como sanguinolenta em cerca de 6% dos casos. Não foi possível determinar a gravidade em 15 doentes, uma vez que não havia informação relativa a certos valores analíticos, nomeadamente, albumina ou, mais raramente, leucócitos. Dos 2 doentes com ICD complicada, 1 realizou tratamento com vancomicina retal.

Não foi possível determinar qual o tratamento realizado em três doentes e num doente não foi instituída terapêutica dirigida à ICD por estarem implementadas medidas de conforto. Dos 64 doentes submetidos ao tratamento com metronidazol, 7 receberam dose inferior a 1500mg

por dia e a duração média de um ciclo de tratamento foi de 10,77 dias (desvio-padrão 3,72). A duração média do tratamento com vancomicina foi de 12 dias (desvio-padrão 2,58) e a dose administrada foi sempre de 500 mg por dia. Cinco dos episódios foram tratados com ambos os antibióticos. O *C. difficile* revelou ser resistente ao tratamento inicial com metronidazol em 5 casos. Durante o tratamento da ICD, 51% dos doentes tomaram concomitantemente um antibiótico para tratamento de outra infeção.

População de doentes com ICD	Doentes (n=80)	
	n	%
Dados epidemiológicos		
Idade, em anos, mediana (IIQ)	69 (55,5-81,5)	
Idade > 65anos	49	61,9
Sexo masculino	39	48,8
Proveniência		
Internamento	56	70
Serviço de Urgência	18	22,5
Lar/Unidade cuidados continuados	3	3,75
Outro Hospital	3	3,75
Dias internamento	23,5 (10,25-45,5)	
Dias internamento até ICD	13 (7-30)	23,75
Comorbilidades		
Diabetes	19	22,5
Doença Renal Crónica	24	30
Doença Maligna	13	16,25
Cirrose	3	3,75
Doença Inflamatória Intestinal	5	6,25
Internamento nos 3 meses anteriores à ICD	40	50
Outra infeção durante internamento	50	62,5

Imunossupressão	22	22,5
Exposição fármacos		
Antibióticos nos 3 meses prévios	75	93,75
IBP	46	57,5
Gravidade, tratamento e desfecho clínico		
Gravidade		
Leve a moderada	51	63,8
Grave	12	15
Grave e complicada	2	2,5
Metronidazol	64	80
Vancomicina	7	8,75
Terapêutica combinada	5	6,3
Recorrência	7	8,75
Fatalidade intra-hospitalar	13	16,3

Tabela 2 – Dados epidemiológicos, gravidade e tratamentos da ICD no CHUP.

IBP: Inibidor bomba de prótons como medicação crónica; **IIQ** – intervalo interquartil. A imunossupressão pressupõe: realização de fármacos terapêutica imunossupressora ou quimioterapia, transplantação órgãos, infeção por VIH.

Verificou-se recorrência da ICD em 7 doentes, sendo que 2 deles tiveram 2 episódios de recidiva. Todos estes doentes foram tratados para a primeira infeção com metronidazol, 3 deles por um período inferior a 10 dias e um deles com 750 mg por dia. Quatro doentes realizaram simultaneamente antibioterapia para outras infeções.

Em dois doentes foi realizado tratamento conservador para a infeção recorrente, sem instituição de antibioterapia dirigida. Dados adicionais estão descritos na **Tabela 3**. No segundo episódio de recorrência, a doente nº1 foi tratada com fidaxomicina e o doente nº5 com vancomicina, durante 10 dias. Cinco dos sete doentes apresentavam pelo menos uma comorbilidade, diabetes mellitus ou doença renal crónica. Nenhum deles tinha DII. Não se verificaram mais episódios durante o período de tempo abrangido por este estudo.

Doente nº	Idade	Nº Recorrências	Nº de dias de tratamento 1ª infecção	Outros antibióticos*	Tempo entre episódios	Tratamento da 1ª recorrência
1	89	2	14	Não	3 S	Vancomicina, 14 dias
2	54	1	7	Sim	6 S	0
3	63	1	12	Sim	4 S	Metronidazol, 8 dias
4	62	1	>7	Sim	2 S	0
5	84	2	8	Sim	6 S	Metronidazol, 14 dias
6	89	1	8	Não	1,5 S	Vancomicina, 15 dias
7	79	1	10	Não	3 S	Metronidazol, 15 dias

Tabela 3 - Doentes com 1 ou mais episódios de ICD recorrente.

***Outros antibióticos** – administração de outros antibióticos não dirigidos à ICD durante ou após o seu tratamento; **S** – semanas.

Discussão

O número de casos de ICD encontrados no CHUP, 80 em 1 ano, foi muito superior ao relatado em outros estudos em Portugal.[70-72] O facto de estes estudos terem sido realizados há pelo menos 5 anos pode explicar esta diferença, uma vez que está amplamente descrito o aumento global da frequência de ICD.[3] Seria importante saber o impacto da ICD no CHUP, em anos anteriores, no sentido de esclarecer se 2016 foi um ano com número anormalmente elevado de casos ou se houve um aumento gradual da incidência de ICD.

A importância dos casos de ICD adquirida na comunidade e seu impacto na epidemiologia mundial, [10, 35, 73] não se confirmaram no CHUP. O nosso estudo determinou a ocorrência de 6,25% de casos de ICD de aquisição na comunidade, ao contrário dos 30% descritos na literatura.[4] No entanto, foram encontrados resultados semelhantes num estudo realizado em 2009, em Coimbra.[72]

Este estudo retrospectivo confirmou a alta prevalência dos fatores de risco já amplamente discutidos, como a antibioterapia prévia e a idade avançada. Verificou-se uma elevada percentagem de doentes com internamentos recentes e com outras infeções concomitantes durante este episódio, o que suporta a ideia de que a ICD ocorre numa população mais frágil e com pior estado geral, conforme já descrito na literatura. [8, 31] A mortalidade intra-hospitalar encontrada aproxima-se da descrita em outros estudos.[4]

No nosso estudo, as classes de antibióticos mais associadas à ICD, foram as penicilinas e os carbapenemos. As cefalosporinas e a clindamicina, descritos como os mais implicados,[30] surgem em percentagens mais baixas. A relação entre um determinado antibiótico e o desenvolvimento de ICD parece alterar-se com os padrões de prescrição a nível institucional e da comunidade.[70] Este fator parece ser particularmente relevante para a clindamicina, já que o seu uso é menos frequente em Portugal. Por outro lado, a crescente utilização de carbapenemos na rotina hospitalar emerge paralelamente aos relatos de que os carbapenemos se associam a um maior risco de ICD comparativamente a outros antibióticos mais associados no passado.[6]

A percentagem de doentes a realizar medicação com IBP fica aquém do descrito em outros estudos.[70, 71, 74] Apesar de nenhum doente com DII ter desenvolvido infeção recorrente, está demonstrado um aumento do risco de recidivas, na ordem dos 33%.[33] Este facto estará provavelmente relacionado com o pequeno número de doentes que integrou este estudo.

Por último, os episódios de recorrência verificaram-se em cerca de 9% dos casos. A recorrência ocorreu principalmente em doentes tratados com doses inferiores ou ciclos de antibioterapia mais curtos em relação ao recomendado. Tal está descrito como fator de risco [13, 20, 23] e evidencia a importância do correto tratamento destes doentes. Além disso, 4 destes 7 doentes mantiveram antibioterapia para outras infeções que não ICD, o que é também apontado como um fator de risco.[10, 13, 20]

A impossibilidade de determinação da gravidade da ICD, num número elevado de doentes, é preocupante, uma vez que o tratamento adequado da ICD requer o seu conhecimento. Além disso, o tratamento da ICD com doses insuficientes ou com duração inferior à recomendada ocorreu em alguns casos. Este estudo retrospectivo, mas atual, poderá ser um alerta para estas situações.

Este estudo apresenta algumas limitações. O método de deteção dos doentes com ICD, com recurso apenas aos testes laboratoriais, é uma delas. O facto de o diagnóstico por colonoscopia ocorrer numa minoria das ICD, [10] reduz este erro. Além disso, ao longo da análise dos doentes com resultados positivos no teste EIA, foram encontrados episódios de ICD com resultado negativo, mas com alta suspeita clínica. Estes também foram integrados e classificados como ICD neste estudo, o que diminui a possibilidade excluir inadvertidamente estes doentes.

O número limitado de doentes que participaram neste estudo, não possibilitou a comparação entre grupos nem a delineação de hipóteses com significância estatística.

Conclusão

O *Clostridium difficile* é um dos agentes patogénicos mais comuns das infeções nosocomiais e a ICD é a principal causa de diarreia infecciosa nosocomial. Esta infeção acarreta um custo significativo para os serviços de saúde e comporta um risco de mortalidade três vezes superior nos doentes hospitalizados.

O aumento preocupante da incidência, gravidade e taxa de recorrência da ICD tem sido documentado em vários estudos. Em Portugal, apesar da limitação dos dados disponíveis, parece confirmar-se esta tendência.

São esperados a curto prazo progressos no tratamento e prevenção da ICD. A possibilidade de realização de transplante de matéria fecal, por via oral, através de cápsulas de matéria fecal criopreservada parece resolver muitas limitações relacionadas com este procedimento e possibilitar o seu uso em larga escala. Em Portugal, a aplicação de terapêuticas não antibióticas, incluindo o transplante de microbiota fecal, deveria ser explorado. A prevenção e tratamento da infeção recorrente surgem claramente como o maior desafio relacionado com a ICD.

Em conclusão, a casuística realizada no CHUP permitiu confirmar a ocorrência crescente desta infeção, bem como a sinalização de alguns doentes subtratados e serviços com altas taxas de ICD. Teria interesse a continuação deste estudo no sentido de melhor esclarecer a evolução epidemiológica da ICD no nosso hospital. A obtenção de uma maior amostra de doentes permitiria estabelecer associações estatisticamente significativas, no que concerne aos fatores de risco e características epidemiológicas.

Referências

1. Phimister, E.G., *Toward a True Bacteriotherapy for Clostridium difficile Infection*. N Engl J Med, 2015: p. 372;16.
2. Davies, K.A., et al., *Underdiagnosis of Clostridium difficile across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of Clostridium difficile infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID)*. The Lancet Infectious Diseases, 2014. **14**(12): p. 1208-1219.
3. Davies, K.A., et al., *Diversity of Clostridium difficile PCR ribotypes in Europe: results from the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of Clostridium difficile infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID), 2012 and 2013*. Euro Surveill, 2016. **21**(29).
4. Leffler, D.A. and J.T. Lamont, *Clostridium difficile infection*. N Engl J Med, 2015. **372**(16): p. 1539-48.
5. Lofgren, E.T., et al., *Hospital-acquired Clostridium difficile infections: estimating all-cause mortality and length of stay*. Epidemiology, 2014. **25**(4): p. 570-5.
6. Bispo, M., *Aumento alarmante da incidência da diarreia associada ao clostridium difficile em Portugal*. GE Jornal Português de Gastreenterologia, 2012. **19**(6): p. 276-277.
7. Kociolek, L.K. and D.N. Gerding, *Breakthroughs in the treatment and prevention of Clostridium difficile infection*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2016. **13**(3): p. 150-60.
8. Oake N, e.a., *The effect of hospital-acquired Clostridium difficile infection on in-hospital mortality*. Arch Intern Med, 2010(170): p. 1804-10.
9. Hensgens, M.P., et al., *All-cause and disease-specific mortality in hospitalized patients with Clostridium difficile infection: a multicenter cohort study*. Clin Infect Dis, 2013. **56**(8): p. 1108-16.
10. Dubberke, E.R., et al., *Strategies to prevent Clostridium difficile infections in acute care hospitals: 2014 Update*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2014. **35**(6): p. 628-45.
11. Youngster, I., et al., *Oral, frozen fecal microbiota transplant (FMT) capsules for recurrent Clostridium difficile infection*. BMC Med, 2016. **14**(1): p. 134.
12. Carmo, J., et al., *Leaping Forward in the Treatment of Clostridium Difficile Infection: Update in 2015*. GE Portuguese Journal of Gastroenterology, 2015. **22**(6): p. 259-267.
13. Surawicz, C.M., et al., *Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections*. Am J Gastroenterol, 2013. **108**(4): p. 478-98; quiz 499.
14. Kelly, C.P. and T.J. La Monte, *Clostridium difficile — More Difficult Than Ever*. N Engl J Med, 2008. **359**: p. 1932-40.
15. Abt, M.C., P.T. McKenney, and E.G. Pamer, *Clostridium difficile colitis: pathogenesis and host defence*. Nat Rev Microbiol, 2016. **14**(10): p. 609-20.
16. Rupnik, M., M.H. Wilcox, and D.N. Gerding, *Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis*. Nat Rev Microbiol, 2009. **7**(7): p. 526-36.
17. Ogielska, M., et al., *Emergence of community-acquired Clostridium difficile infection: the experience of a French hospital and review of the literature*. Int J Infect Dis, 2015. **37**: p. 36-41.

18. Donskey, C.J., S. Kundrapu, and A. Deshpande, *Colonization versus carriage of Clostridium difficile*. Infect Dis Clin North Am, 2015. **29**(1): p. 13-28.
19. Badger, V.O., et al., *Clostridium difficile: epidemiology, pathogenesis, management, and prevention of a recalcitrant healthcare-associated pathogen*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2012. **36**(6): p. 645-62.
20. SB, D., et al., *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for Clostridium difficile infection*. Clin Microbiol Infect., 2014. **20**: p. 1-26.
21. Postma, N., D. Kiers, and P. Pickkers, *The challenge of Clostridium difficile infection: Overview of clinical manifestations, diagnostic tools and therapeutic options*. Int J Antimicrob Agents, 2015. **46 Suppl 1**: p. S47-50.
22. Kuy, S., et al., *Increasing Incidence of and Increased Mortality Associated With Clostridium difficile-Associated Megacolon*. JAMA Surg, 2016. **151**(1): p. 85-6.
23. Cohen, S.H., et al., *Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA)*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010. **31**(5): p. 431-55.
24. Allen, S.J., et al., *Lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile diarrhoea in older inpatients (PLACIDE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial*. The Lancet, 2013. **382**(9900): p. 1249-1257.
25. Saúde, D.-G.d., *Diagnóstico da infecção por Clostridium difficile nos hospitais, unidades de internamento de cuidados continuados integrados e na comunidade*. 2014. **19**.
26. Shields, K., et al., *Recurrent Clostridium difficile infection: From colonization to cure*. Anaerobe, 2015. **34**: p. 59-73.
27. Wilcox, M.H., et al., *Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent Clostridium difficile Infection*. N Engl J Med, 2017. **376**(4): p. 305-317.
28. van Nood, E., et al., *Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile*. N Engl J Med, 2013. **368**(5): p. 407-15.
29. Khoruts, A. and M.J. Sadowsky, *Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2016. **13**(9): p. 508-16.
30. Slimings, C. and T.V. Riley, *Antibiotics and hospital-acquired Clostridium difficile infection: update of systematic review and meta-analysis*. J Antimicrob Chemother, 2014. **69**(4): p. 881-91.
31. Leffler, D.A. and J.T. Lamont, *Treatment of Clostridium difficile-associated disease*. Gastroenterology, 2009. **136**(6): p. 1899-912.
32. McDonald, L.C.K., E. G; Thompson, A, et al, *An Epidemic, Toxin Gene–Variant Strain of Clostridium difficile*. N Engl J Med, 2005. **353**(23): p. 2433-41.
33. Razik, R., et al., *Recurrence of Clostridium difficile Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease: The RECIDIVISM Study*. Am J Gastroenterol, 2016. **111**(8): p. 1141-6.
34. Khanna, S., A. Shin, and C.P. Kelly, *Management of Clostridium difficile Infection in Inflammatory Bowel Disease: Expert Review from the Clinical Practice Updates Committee of the AGA Institute*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2017. **15**(2): p. 166-174.

35. Chitnis, A.S., et al., *Epidemiology of community-associated Clostridium difficile infection, 2009 through 2011*. JAMA Intern Med, 2013. **173**(14): p. 1359-67.
36. Dumyati, G., et al., *Community-associated Clostridium difficile infections, Monroe County, New York, USA*. Emerg Infect Dis, 2012. **18**(3): p. 392-400.
37. Lessa, F.C., et al., *Burden of Clostridium difficile infection in the United States*. N Engl J Med, 2015. **372**(9): p. 825-34.
38. Jullian-Desayes, I., et al., *Clostridium difficile contamination of health care workers' hands and its potential contribution to the spread of infection: Review of the literature*. Am J Infect Control, 2017. **45**(1): p. 51-58.
39. Sethi, A.K., et al., *Persistence of skin contamination and environmental shedding of Clostridium difficile during and after treatment of C. difficile infection*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010. **31**(1): p. 21-7.
40. Lau, C.S. and R.S. Chamberlain, *Probiotics are effective at preventing Clostridium difficile-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis*. Int J Gen Med, 2016. **9**: p. 27-37.
41. Sinclair, A., et al., *Lactobacillus probiotics in the prevention of diarrhea associated with Clostridium difficile: a systematic review and Bayesian hierarchical meta-analysis*. CMAJ Open, 2016. **4**(4): p. E706-E718.
42. Stranges, P.M., D.W. Hutton, and C.D. Collins, *Cost-effectiveness analysis evaluating fidaxomicin versus oral vancomycin for the treatment of Clostridium difficile infection in the United States*. Value Health, 2013. **16**(2): p. 297-304.
43. Louie, T.J.M., M. A.; Mullane, K. M.; et al, *Fidaxomicin versus Vancomycin for Clostridium difficile Infection*. N Engl J Med, 2011(364): p. 422-31.
44. 3rd, E.E., S. AJ, and M. NL, *Fidaxomicin use and clinical outcomes for associated diarrhea*. Infect Dis Clin Pract (Baltim MD), 2015. **23**(1): p. 32-35.
45. Cornely, O.A., et al., *Fidaxomicin versus vancomycin for infection with Clostridium difficile in Europe, Canada, and the USA: a double-blind, non-inferiority, randomised controlled trial*. The Lancet Infectious Diseases, 2012. **12**(4): p. 281-289.
46. Palau-Davila, L., et al., *Efficacy of computed tomography for the prediction of colectomy and mortality in patients with clostridium difficile infection*. Ann Med Surg (Lond), 2016. **12**: p. 101-105.
47. Klobuka, A.J. and A. Markelov, *Current status of surgical treatment for fulminant clostridium difficile colitis*. World J Gastrointest Surg, 2013. **5**(6): p. 167-72.
48. Neal, M.D., et al., *Diverting loop ileostomy and colonic lavage: an alternative to total abdominal colectomy for the treatment of severe, complicated Clostridium difficile associated disease*. Ann Surg, 2011. **254**(3): p. 423-7; discussion 427-9.
49. Fashandi, A.Z., et al., *An institutional comparison of total abdominal colectomy and diverting loop ileostomy and colonic lavage in the treatment of severe, complicated Clostridium difficile infections*. Am J Surg, 2016.
50. Pillai A, N.R., *Probiotics for treatment of Clostridium difficile-associated colitis in adults*. Cochrane Database SystRev, 2008. **CD004611**.
51. McFarland, L.V., *Evidence-based review of probiotics for antibiotic-associated diarrhea and Clostridium difficile infections*. Anaerobe, 2009. **15**(6): p. 274-80.
52. McFarland, L.V., *Therapies on the horizon for Clostridium difficile infections*. Expert Opin Investig Drugs, 2016. **25**(5): p. 541-55.

53. Kyne, L., et al., *Asymptomatic carriage of Clostridium difficile and serum levels of IgG antibody against toxin A*. N Engl J Med, 2000. **342**: p. 390-7.
54. Lowy I, M.D., Leav BA, et al, *Treatment with monoclonal antibodies against Clostridium difficile toxins*. N Engl J Med, 2010. **362**: p. 197-205.
55. Kotloff, K.L., et al., *Safety and immunogenicity of increasing doses of a Clostridium difficile toxoid vaccine administered to healthy adults*. Infect Immun, 2001. **69**(2): p. 988-95.
56. Foglia, G., et al., *Clostridium difficile: development of a novel candidate vaccine*. Vaccine, 2012. **30**(29): p. 4307-9.
57. Ghose, C. and C.P. Kelly, *The prospect for vaccines to prevent Clostridium difficile infection*. Infect Dis Clin North Am, 2015. **29**(1): p. 145-62.
58. Garcia-Garcia-de-Paredes, A., et al., *[Fecal microbiota transplantation]*. Gastroenterol Hepatol, 2015. **38**(3): p. 123-34.
59. Garcia-Garcia-de-Paredes, A., et al., *Trasplante de microbiota fecal: algo más que una curiosidad terapéutica*. Rev Esp Enferm Dig, Madrid, 2015. **Vol. 107**(N.º 7): p. pp.399-401.
60. Kelly, C.R., et al., *Effect of Fecal Microbiota Transplantation on Recurrence in Multiply Recurrent Clostridium difficile Infection: A Randomized Trial*. Ann Intern Med, 2016. **165**(9): p. 609-616.
61. van Nood, E., et al., *Fecal microbiota transplantation: facts and controversies*. Curr Opin Gastroenterol, 2014. **30**(1): p. 34-9.
62. Kassam, Z., et al., *Fecal microbiota transplantation for Clostridium difficile infection: systematic review and meta-analysis*. Am J Gastroenterol, 2013. **108**(4): p. 500-8.
63. Kelly, C.R., et al., *Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook*. Gastroenterology, 2015. **149**(1): p. 223-37.
64. Brandt, L.J., et al., *Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent Clostridium difficile infection*. Am J Gastroenterol, 2012. **107**(7): p. 1079-87.
65. Drekonja, D., et al., *Fecal Microbiota Transplantation for Clostridium difficile Infection: A Systematic Review*. Ann Intern Med, 2015. **162**(9): p. 630-8.
66. Prior, A.R., et al., *Treatment of Clostridium difficile infection: a national survey of clinician recommendations and the use of faecal microbiota transplantation*. J Hosp Infect, 2016.
67. Youngster, I., et al., *Fecal microbiota transplant for relapsing Clostridium difficile infection using a frozen inoculum from unrelated donors: a randomized, open-label, controlled pilot study*. Clin Infect Dis, 2014. **58**(11): p. 1515-22.
68. Lee, C.H., et al., *Frozen vs Fresh Fecal Microbiota Transplantation and Clinical Resolution of Diarrhea in Patients With Recurrent Clostridium difficile Infection: A Randomized Clinical Trial*. JAMA, 2016. **315**(2): p. 142-9.
69. Ponte A, P.R., Mota M, Silva J, Vieira N, Oliveira R, Pinto-Pais T, Fernandes and R.I. C, Rodrigues J, Lopes P, Teixeira T, Carvalho J., *Initial experience with fecal microbiota transplantation in Clostridium difficile infection – transplant protocol and preliminary results*. REV ESP ENFERM DIG, Madrid, 2015. **107**: p. 402-407.
70. Silva, J.D., et al, *Diarreia associada ao Clostridium difficile - Casuística de 8 anos*. GE Jornal Português de Gastreenterologia, 2012. **19**(6): p. 284-289.

71. Vieira, A.M., et al, *Diarreia associada a Clostridium difficile - num hospital central*. GE Jornal Português de Gastreenterologia, 2010. **17**(10-17).
72. Correia, L., et al, *Doença associada ao Clostridium difficile - aumento dramático da sua incidência em doentes internados*. Artigos Originais Medicina Interna, 2012. **19**(2).
73. Deshpande, A., et al., *Community-associated Clostridium difficile infection and antibiotics: a meta-analysis*. J Antimicrob Chemother, 2013. **68**(9): p. 1951-61.
74. Roncarati, G., et al., *Surveillance of Clostridium difficile Infections: Results from a Six-Year Retrospective Study in Nine Hospitals of a North Italian Local Health Authority*. Int J Environ Res Public Health, 2017. **14**(1).